

München 1959

Untersuchungen über die
Plasmaclearance
von S 35-markiertem DL-Cystin
im tumorkranken Organismus

von

RUDOLF TH. PERL

Aus Institut und Poliklinik für Physikalische Therapie und Röntgenologie
der Universität München

- Rieder-Institut -

Direktor: Professor Dr. H. von Braunbehrens

Untersuchungen über die Plasmaclearance von S 35- markiertem DL-Cystin
im tumorkranken Organismus.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

einer

Hohen Medizinischen Fakultät

der Ludwig-Maximilian-Universität zu München

vorgelegt

von

Rudolf Th. Perl

aus Landsberg am Lech

1959

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Priv.Doiz. Dr.H.W.Pabst

Correferent: Prof. Dr. H. von Braunbehrens

Dekan: Prof. Dr. K. Kolle

Tag der mündlichen Prüfung: 28. Juli 1959

Inhaltsangabe

Einleitung	Seite 1
Der Cystin- und Schwefel- stoffwechsel	Seite 2
Bestimmung des extrazellu- lären Flüssigkeitsraumes	Seite 5
Methode	Seite 7
Fehlerquellen	Seite 14
Ergebnisse	Seite 16
Diskussion	Seite 21
Zusammenfassung	Seite 27
Literaturhinweise	Seite 28



Untersuchungen über die Plasmaclearance von S 35- markiertem
DL-Cystin im tumorkranken Organismus.

Einleitung

Die Erkennung eines ungezügelten, infiltrierenden und destruierenden Wachstums, wodurch der maligne Tumor gekennzeichnet wird, ist der Angelpunkt jeglicher Krebstherapie. Die möglichst frühzeitige Erfassung eines solchen Prozesses ist unbedingt notwendig, um den bis heute fast ausschließlich chirurgischen und radiologischen Maßnahmen zum Erfolg zu verhelfen. Es wurde versucht, den spezifischen Tumorstoffwechsel zu erfassen, was ein eindeutiges Ergebnis bei der Struma maligna durch Radiojod zeitigte. Durch Cramer, Brilmayer und Pabst (1) wurden Arbeiten über selektive Speicherung von Radiophosphor, J_{131} -Natriumfluoreszin und Atebrin veröffentlicht. In einer anderen Arbeit wiesen Cramer und Pabst (2) auf die Möglichkeit hin, auf Grund von Speicherunterschieden zwischen malignen und benignen Tumoren mit Hilfe von P_{32} Differentialdiagnose zu betreiben.

Diese Methoden basieren entweder auf der lokalen Aktivitätsmessung oder auf der Bestimmung der Ausscheidungsquote im Urin. Der ersten Möglichkeit sind durch die geringen Emissionsenergien der β -Strahler wie P_{32} oder S_{35} , (0,68 MeV bzw. 0,05 MeV), und dadurch ihrer Durchdringungsfähigkeit (für P_{32} maximal 8 mm und für S_{35} 0,3 mm in einem Medium von spez. Gewicht 1), enge Grenzen gesetzt. Es wurde zwar möglich, durch Mikrozählrohre, die in Körperhöhlen eingeführt werden, das Feld für die Diagnose zu weiten, aber durch die Zerbrechlichkeit und Schwierigkeiten bei der Herstellung der Zählrohre ergaben sich weitere Hindernisse. Nierenfunktionsstörungen machen die zweite Möglichkeit nur beschränkt anwendbar.

Es wurde daran gedacht, sowohl den allgemeinen, als auch den intermediären Stoffwechsel in seinen Veränderungen als Diagnostikum zu verwenden. Die Aminosäure Cystin, die sich gut durch S_{35} markieren läßt, erscheint wiederholt als Prüfagens: Kellner, Ley und Stark (3) bestimmten die Schwefel- und Cystinausscheidung im Urin vor dem Versuch und stellten dann bei Gesunden und Malignomkranken die Veränderung der Ausscheidung nach einem peroralen Cystinbelastungsversuch fest. Weissberger und Suhrland (4) prüften die Aufnahme von L-Cystin- S_{35} in Murphy-Lymphosarkom-Tumorzellen bei Ratten und seine Substitution durch L-Selen-Cystin durch Einbringen der Zellen in entsprechende Lösungen. Weißberger und Levine (5) machten durch orale Cystingaben ihre Untersuchung bei Leukozyten Leukaemiekranker. Bieber (6) prüfte die S_{35} -Serumspiegel bei Gesunden und Tumorkranken nach intravenöser Gabe von $Na_2S_{35}O_4$.

Der Cystin- und Schwefelstoffwechsel

Den Weg zur Benützung von S_{35} markierten Aminosäuren, Methionin, Cystein und Cystin, wies die Tatsache, daß diese in einem wesentlichen Maße in den Zellstoffwechsel, das Zellwachstum und die Zellteilung eingreifen. (Hammett (7), Hartweg (8)). Aus diesem Grunde liegt die Vermutung nahe, daß in Organismen mit excessivem Wachstum, seien es nun gesteigerte physiologische Wachstumsvorgänge bei Embryonen oder bei Heilungen, oder pathologische bei krebsigen Prozessen, ein besonders hoher Bedarf an Sulfoaminosäuren besteht. Die Gaben von Cystin und Methionin bei degenerativen Leberveränderungen als "lipotrope Substanzen" (Hamperl (9), Hartmann (10)) haben seit langem Eingang in die Therapie genommen.

Es konnte gezeigt werden, daß bei oraler (Emmrich (11)) oder intravenöser (Wiggans, Burr, Rumsfeld (12)) Gabe von Methionin der Cystinspiegel in Leber und Serum ansteigt, allerdings unter der Voraussetzung, daß keine groben Störungen in der körpereigenen Eiweißsynthese stattfanden. Ebenfalls bei Methioninverabreichung an gravidе Ratten konnten Schreier, Zöller, Harmann (13) beweisen, daß der Markierungsschwefel S_{35} als Sulfat in der Chondroitinschwefelsäure des mütterlichen und embryonalen Knorpelgewebes erscheint. Die durch die Nahrung oder in körpereigener Synthese dargestellte Aminosäure Cystin steht außerdem in einem p_H -abhängigen Gleichgewicht mit ihrem Monomeren Cystein und bildet damit durch Vermittlung der Zytochromoxydase ein wichtiges biologische Redoxsystem (Lang(14)). Wenn überdies noch in Betracht gezogen wird, daß weder Cystein noch Cystin essentielle Aminosäuren sind, sondern durch Demethylierung von Methionin über Homocystein aufgebaut werden, (du Vignaud (15)), so läßt sich als Zusammenfassung der obigen Schwefelstoffwechselstudien sagen, daß der zugeführte, sich in organischer Bindung befindliche Schwefel von Organismus in die jeweilig benötigte Oxydationsform übergeführt wird.

Das Cystin, somit als dimeres Demethylierungsprodukt des Methionins, steht mit letzterem als zentrale regenerierende Sulfoaminosäure im Heilprozess des Leberparenchyms, erscheint nötig zu Zellwachstum und Zellteilung und kann ferner als Schwefelspender, mit nachfolgender Oxydation zu Sulfat, für die Entgiftungsfunktionen der Leber, bei der Synthese von Chondroitinschwefelsäure beim Aufbau und Wachstum von Knochen- und Knorpelgewebe oder als solches zur Eiweißsynthese in der Leber verwendet werden. Daneben soll das Cystin durch die Schwefel-Schwefelkoppelung zweier gleicher Aminosäuren, Cystein, die Querverbindung der Eiweißmolekülketten, wie es z.B. bei kollagenen Fasern notwendig ist, erst möglich machen (Huisgen (16)).

Hieraus läßt sich folgern, daß in einem physiologischen Heilprozess oder Aufbau ein Sulfoaminosäurebedarf besteht, ebenso wie beim malignen Wachstum. Jedoch werden sich jene gleichsinnigen Vorgänge anamnestisch oder klinisch ausschließen, bzw. einkalkulieren lassen.

Der Schwefel liegt mit 0,196 % Körpergewicht in der Reihe der Elemente, aus denen sich der Organismus aufbaut, an siebter Stelle.

Er ist eingebaut, in %-Körpergewicht ausgedrückt, vorwiegend in der Haut

	0,375 %
im Muskel	0,250 %
im Herz	0,200 %
in der Leber	0,190 %
im Skelett	0,137 %

Über den Anteil des Schwefels, der als Cystin gebunden ist, liegen derzeit keine Angaben vor.

Die bekannten Cystingehaltszahlen in den Fraktionen des Serumeiweißes werden mit

Albumin	5,58 %	
Gamma-Globulin	2,37 %	
Fibrinogen	2,23 %	angegeben.

Der Anteil des freien Cystins im Serum beläuft sich auf 1,4 mg/100 ml.

In organischer Bindung wird der Schwefel in 5 % des Totalschwefels im 24-Stunden-Harn ausgeschieden, was einem Gewicht von 0,15 - 0,4 g entspricht. Davon fallen auf das Cystin $87,7 \pm 25$ mg in freier Form.

Die in diesem Abschnitt angegebenen Zahlen wurden Geigy, Wissenschaftliche Tabellen 1955, entnommen.

Bestimmung des extrazellulären Flüssigkeitsraumes

Wird eine Testsubstanz intravenös verabreicht, so erhält man in Abhängigkeit von der Zeit einen zweiteiligen Kurvenverlauf, der, auf halblogarithmischem Papier aufgetragen, zwei geraden Linien entspricht. Diese beiden Kurvenabschnitte sind der Ausdruck der Verteilung, der Gleichgewichtseinstellung und der Ausscheidung der betreffenden Substanz im Organismus.

Der erste Kurvenabschnitt zeigt einen steilen Abfall, der in einem von der verwendeten Substanz abhängigen Zeitpunkt in einen wesentlich flacheren Verlauf übergeht. Dieser in der anglikanischen Literatur als "Zero-time" bezeichnete Zeitpunkt schließt die Verteilung der Testlösung im extrazellulären Flüssigkeitsraum ab.

Der extrazelluläre Flüssigkeitsraum umfaßt die Gesamtheit der sich in Blut- und Lymphgefäßen, Saftspalten, Liquorräumen und Drüsenlumina befindlichen Flüssigkeit. Dazu ist zu bemerken, daß dem Übertritt der Prüfungssubstanz in die Liquorräume die Blut-Liquorschranke entgegensteht und die Sekretion in die Drüsenlumina ein aktiver Vorgang ist und somit in den kurzen Zeiträumen, die zur Erreichung der zero-time nötig sind, zumindest unter physiologischen Bedingungen nicht als primäre extrazelluläre Flüssigkeitsräume in Betracht kommen (Walser, Seldin, Grollmann (17)).

Der Zeitpunkt, zu dem sich der Übergang in den flachen Verlauf einstellt, ist abhängig von der Teilchengröße der Prüfungssubstanzen (Swan, Madisso, Pitts (18)). Im Augenblick der zero-time ist die Verteilung zugleich mit der Einstellung eines Gleichgewichtes im Sinne des physiologischen Donnan-Gleichgewichtes für die betreffende Substanz abgeschlossen. Wird der extrazelluläre Raum z.B. mit Radiosulfat bestimmt, so liegt die zero-time in der Zeitspanne von 15 bis 20 Minuten nach Injektion (Walser (19)).

Von jetzt an, im langsamen Abfall des Serumspiegels der benützten Substanz, bestimmen im wesentlichen zwei Größen den Kurvenverlauf: Erstens, die weitere aktive Aufnahme der betreffenden Substanz in die Zellen, die dem Einbau oder der Stoffwechselbeteiligung der Testsubstanz in den verschiedenen Zellsubstraten dient und zweitens, die Ausscheidung der Testsubstanz durch Nieren, Darm und Drüsen. Die unter erstens benötigten Mengen werden durch Substraktion der zu erfassenden Ausscheidungsmenge vom Serumspiegel ermittelt (Everett, Simmons (20)). Der Substanzverlust durch Stuhl und Schweiß bei der zugrunde liegenden Arbeit mit Radiosulfat, kann vernachlässigt werden (Walser, Reid, Seldin (21)). Nach einer Veröffentlichung von Ryan, Pascal u.a. zeigte sich das Maximum der Sulfataufnahme in die Zellen nach 6 - 8 Stunden und betrug etwa 10 - 11 % der injizierten Menge bei Versuchspersonen mit sitzender Tätigkeit und ungefähr 15 % im Durchschnitt bei körperlich Angestregten. Die Werte geben nur Mittelwerte an, die Einzeldaten zeigten große individuelle Schwankungen. Derselbe Autor gab auf Grund seiner Untersuchungen den mittleren extrazellulären Flüssigkeitsraum mit 19 % Körpergewicht bei jungen, körperlich arbeitenden, mit 16,7 % bei jungen, sitzend beschäftigten Menschen und mit 16 % für ältere männliche und weibliche Personen an. Diese Daten stimmen mit denen anderer Untersucher, die mit anderen Substanzen arbeiteten, überein.

Aus obigen Ausführungen läßt sich ableiten, daß der extrazelluläre Flüssigkeitsraum unabhängig von den verwendeten Teststoffen für gesunde berufs-, alters- und geschlechtsmäßiggleiche Personengruppen annähernd konstant ist.

Ferner ergab sich eine Stoffwechselbeteiligung der Teststoffe, die den besonderen Erfordernissen des Organismus angemessen erscheint.

Wird diese Bestimmung bei Kranken vorgenommen, so ändert sich bereits aus mechanischen Gründen bei pathologischen

Gefäß- und Kreislaufverhältnissen die Zirkulationsgeschwindigkeit (Shmith und Quimby (23)). Bei oedematösen Krankheitsbildern stellt sich das Gleichgewicht, in Abhängigkeit vom Ausmaß des Oedems, später ein. (Madison, Teng, u.a. (24)).

Methode

Je einer Gruppe von Kranken mit gesichertem Malignom und einer Gruppe von nichttumorkranken Kontrollpersonen wurde die gleiche Aktivitätsmenge von $137 \mu\text{C S}_{35}$ -Cystin in die Kubitalvene des einen Armes injiziert. Das kristalline DL-Cystin wurde in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Da Cystin in neutralen Medien äußerst schwer löslich ist, wurde es in Form sehr hoher spez. Aktivität verwendet und zugleich pro 2 ml Lösung $1/10$ ml $n/10 \text{ H}_2\text{SO}_4$ zugesetzt. Mit der Aktivität von $137 \mu\text{C S}_{35}$ blieb man unter der erlaubten Höchstdosis für einmalige Injektionen von $250 \mu\text{C S}_{35}$, um die wöchentliche Strahlenbelastung von $0,3 \text{ r}$ nicht zu überschreiten (v.Hevesy (25)). Bedingt durch den Aktivitätsverlust, der sich in der Zeit ergab, über die sich die Versuche erstreckten, wurden beginnend mit 1 mg Cystin bis zu $1,5 \text{ mg}$ Cystin am Ende der Versuche gegeben. In eine Vene des anderen Armes wurde vor der Injektion eine Dauerkanüle mit Flügelschraubenbahn gelegt. Bei der Injektion der Isotope achtete man darauf, daß die Flüssigkeit in gleichbleibender Geschwindigkeit gespritzt wurde. Der Zeitpunkt, zu dem die Hälfte injiziert war, wurde als Zeitpunkt 0 der Versuchsanordnung gewählt. Nun wurden nach 3, 6, 12, 20, 40, 80 und 120 Minuten je 5 ml Blut entnommen. Die Entnahme von 5 ml Blut war angezeigt, weil erst bei dieser Menge, wegen möglicher hoher Haemotokritwerte, der Erhalt von mindestens 2 ml Plasma gewährleistet war.

Der Zeitabschnitt des Blutaufziehens erstreckte sich über 30 Sekunden, wobei 15 Sekunden vor Erreichen des jeweiligen Zeitpunktes damit begonnen wurde. Für jede Blutprobe benutzte man eine frische Rekordspritze. Um zu vermeiden, daß die Dauerkanüle in den Zwischenzeiten verstopfte, wurde immer ein Milliliter Natriumzitrat vorgelegt und entsprechend vor der erneuten Blutabnahme die ersten Tropfen verworfen. Das Blut wurde durch ein Heparinoid ungerinnbar gemacht und in bezeichnete Zentrifugengläser überbracht. Nach zwei Stunden erwies sich die weitere Entnahme von Blut aus der Dauerkanüle als unzuverlässig und auch den Patienten nicht unbedingt zumutbar. Somit konnten die nächsten Proben nach 180 und 240 Minuten (in einem Fall nach 300 Min.) nur durch neuerliche Punktion gewonnen werden.

Von Beginn des Versuchs bis zur letzten Probe waren die Patienten angehalten worden, im Bett zu bleiben.

Zur Kontrolle, wieviel Aktivität ausgeschieden wurde, sammelten die Patienten den gesamten Urin vom Beginn des Versuchs bis zur 80-Stunden-Grenze. Er wurde in Proben nach 8, 20, 32, 56 und 80 Stunden unterteilt und entsprechend ausgewertet. Bei einigen Patienten konnten die Urinproben nicht genau in den angegebenen Zeiträumen erhalten werden, einmal wegen des Alters- oder Krankheitszustandes, zum anderen aus Gründen des Klinikablaufes. In zwei Fällen war es aus eben diesen Gründen unmöglich, Urinproben zu prüfen, weil die ausgeschiedenen Volumina nur in einem nicht einzuschätzenden Anteil erhältlich waren.

Um ein Maß zur Berechnung der tatsächlich ausgeschiedenen Curiemenge zu erhalten, fertigten wir ein Standardpräparat mit bestimmter, bekannter Aktivität an. Die absolute Ausscheidungsmenge ergab sich als Divisionswert der gemessenen Impulse des gesamten Urins der betreffenden Probe mit dem Impulswert des Standardpräparats.

Die gewonnene Probenreihe wurde 10 Minuten bei 3-4000 U/Min. zentrifugiert. Das nunmehr überstehende Plasma pipettierte

man mit 2 ml - Vollpipetten in vorher peinlich gereinigte und gekennzeichnete Kjeldalkolben. In diesen wurden die Plasmaproben nach dem von Masters (26) angegebenen Verfahren verascht. Die Praxis zeigte, daß man das Veraschen nach Masters im Sinne der Zeitgewinnung modifizieren konnte:

Masters gab für die Oxydation 65%ige Salpetersäure an, bis keine Nitrosengase mehr aufsteigen. Dann folgte die Verbrennung mit 38%iger Perchlorsäure. Das Ganze erstreckte sich über mindestens 24 Stunden. Versetzt man die Proben zu Beginn aber stattdessen mit ca. 10 ml konzentrierter HNO_3 (Acid. nitric. fumans) und heizt dann auf der Bunsenbrennerbank vorsichtig an und führt die Veraschung in obiger Weise fort, so konnte man den Vorgang auf einen Arbeitstag beschränken. Es muß allerdings gesagt werden, daß der erste Oxydationsvorgang sehr stark exotherm abläuft, aber die Verwendung einwandfreier Glaswaren führte nie zu einem Zerspringen der Kolben. Mit dieser robusteren Methode war es möglich, Urine nach 3-4 Stunden vollständig verascht zu haben. Diese nasse Veraschung findet unter dem Abzug statt. Als Zeichen der völlig abgeschlossenen Oxydation wurde das hellgrünlich Schimmern des heißen Substrates gewertet. Bei Erkalten verschwindet dieses Phänomen. Die so erhaltene wasserhelle Flüssigkeit wurde bis auf 2-3 ml eingeengt. Darauf schüttete man sie in entsprechend etikettierte, sauberste und nochmals mit Aqua dest. ausgespülte Bechergläser. Jede Probe wurde dreimal mit insgesamt 40 - 50 ml Aqua dest. nachgewaschen, um eine möglichst quantitative Ausbeute zu erreichen. Durch konz. Natronlauge wurde die stark saure Flüssigkeit, mit Phenolphthalein als Indikator, zum Neutralpunkt gebracht.

Der Schwefel, der in dieser Lösung als Sulfat vorliegt, wurde nun als Bariumsulfat gefällt. Da sich aber in 2 ml Serum zusätzlich der geringen zugeführten Schwefelmenge (Cystin-Schwefel-Ansäuerungsschwefel) nur ca. 7 Gamma Totalschwefel (Geigy (27)), somit ca. 20 Gamma Sulfat befinden, wurde pro Probe 3,5 ml n/10 H_2SO_4 als Trägersulfat zugegeben.

Diese Menge wurde empirisch ermittelt, weil man damit, nach der zuvor aufgestellten Selbstabsorptionskurve, in den Bereich der Kurve kam, der gewichtsmäßig der unendlichen Schichtdicke entsprach. Gefällt wurde in Siedehitze unter tropfenweiser Zugabe von 1%iger BaCl -Lösung. Es bildete sich sogleich eine milchige Trübung, die von den feinen Bariumsulfatkristallen herrührte. Darauf ließ man die Suspension bis zur völligen Ausbildung und zum Absetzen des Niederschlags über Nacht stehen. Es erwies sich als zweckmäßig, dabei die Gläser abzudecken, um zu vermeiden, daß der Inhalt durch Fuseln, Haare dgl. verunreinigt werde.

Nun konnte man darangehen, aus dem Niederschlag feste Präparate zu verfertigen. Wir arbeiteten nach dem von Ågren (28) angegebenen Verfahren. Dabei bauten wir den vorgeschlagenen Fällungsapparat in vereinfachter Weise nach. Eine Eintauchnutsche mit einer Glasfritte von der Porenweite G_2 (Schott u. Gen.) wurde mittels eines Gummipropfens auf eine Saugflasche gepasst. Als Aufgießgefäß und zur gleichbleibenden Begrenzung des zu erstellenden festen Präparats wurde der ohne weiteres austauschbare kalibrierte Glaszylinder eine 10 ccm-Ultra-Asept-Spritze verwendet. Zwischen Nutsche und Zylinder wurde ein der lichten Weite des Aluminiumpräparateschälchen entsprechend gestanztes Filterpapier gelegt. Durch Gummi- oder Federzug fixierten wir den Zylinder auf der Nutsche. Es zeigte sich als zweckmäßig, unter den Zylinder ein weiteres Papierplättchen zu legen, weil dadurch der Saugzug der Wasserstrahlpumpe gleichmäßiger wirkte und außerdem der Zylinderrand besser auf der Unterlage aufsaß. Vor Eingießen der Niederschlagsuspension wurde das Filterpapier, das schließlich das BaSO_4 -Präparat tragen sollte, mit 70%igem Alkohol zur besseren Netzung gewaschen. Nun goß man, unter starkem Absaugen mit der Wasserstrahlpumpe, den Niederschlag in das Zylinderlumen. Die Suspensionsflüssigkeit wurde auf diese Weise rasch abgesaugt. Die Bechergläser spülte man wiederholt bis zu ihrer völligen Klarheit mit Aqua dest. nach.

Bei Nachfüllen des Zylinders hatte man darauf zu achten, daß durch das Eingießen im Zylinder keine Wirbel entstanden, die dann ein unterschiedliches Absetzen des Niederschlages bewirkt hätten. Zum Schluß wurde der Zylinder mit etwas 70%igem Alkohol gespült. Mit einigem Geschick beim Eingießen der Suspension konnten völlig ebene Präparate erreicht werden, die die Benützung des von Ågren vorgeschlagenen Kolbenstempels mit Filterpapier-Deckplättchen überflüssig machte. Letzterer methodischer Hinweis zeigt Mängel, nicht nur bei dem feinkörnigen Ba SO_4 -Niederschlag, sondern auch bei dem seidig-nadligen, der von Ågren publizierten Benzidinfällungsmethode (Bieber (6)). Unter Weiterbestehen des Saugzuges löste man den Zylinder aus seiner Halterung und hob ihn vorsichtig vom Filterpapier ab. Nun konnte man das vom Zylinderlumen sauber begrenzte Bariumsulfatpräparat mit dem Filterpapierplättchen fassen und mittels Circollstreifen im Probenschälchen festkleben. Das Filterpapier muß festgeklebt werden, weil sich sonst das Papier wirft. Die fertigen Präparate wurden abgedeckt und 12-18 Stunden luftgetrocknet.

War das Bariumsulfat trocken, dann war die Haftung an der Filterpapierunterlage so groß, daß eine Fixierung z.B. mit Zaponlack unnötig erschien. Auch die Kohäsion des Niederschlages ist ausreichend, die genauen Begrenzungen des Präparats zu erhalten. Bei unseren Versuchen zeigte sich, daß sich selbst die ältesten Präparate bei normaler Behandlung unverändert über viele Wochen erhalten ließen.

Die getrockneten Präparate wurden dann in einem 2π - Methandurchflußzählrohr FH 51 (Friesseke u. Höpfner, Erlangen) gemessen, das an ein Zählaggregat FH 49 gekoppelt war. Erstes war notwendig, weil wegen der weichen β -Strahlung des S_{35} jede Absorption in Luft oder durch das Zählrohrfenster vermieden werden mußte und bei diesem Gerät das Präparat direkt in die Zählkammer eingeführt wird.

Auf diese Weise wird auch der Raumwinkel wesentlich gegenüber anderen Zählern verbessert, sodaß einschließlich Rückstreuung mehr als 50% der Strahlung registriert werden kann. (Apparatebeschreibung F + H (29)). Bei konstantem Methangasdurchfluß wurde bei einer Arbeitsspannung von 3,6 kV und Diskriminatorstellung 10 gemessen.

Zur endgültigen Auswertung der Impulsergebnisse waren allerdings noch weitere Voraussetzungen zu erfüllen: Die Selbstabsorptionskurve, die für BaSO_4 erstellt worden war, zeigte den Bereich der unendlichen Schichtdicke zwischen 25 und 30 mg/cm^2 beginnend. Größere Gewichte pro cm^2 erwiesen sich bei der Präparatfertigung, besonders beim Abheben des Zylinders, als ungünstig, sodaß der Wert 30 mg pro cm^2 für die Versuchsreihen gewählt wurde. Diesem entsprach bei den Ausmaßen unserer Präparate ($2,04 \text{ cm}^2$) die Zugabe von 3,5 ml n/10 $\text{H}_2 \text{SO}_4$ als Trägersulfat. Um den Schichtdickenschwankungen durch alle möglichen Einflüsse zu begegnen, wurde anhand der Selbstabsorptionskurve eine weitere Kurve verfertigt. In ihr trug man auf der Ordinate den Faktor f ein, mit dem multipliziert die gemessene Aktivität in Impulsen/Min. dem Bezugswert 1, in unserer Kurve gleich 30 mg/cm^2 , entspricht (Ågren (30)). Auf der Abszisse wurden die mg/cm^2 aufgetragen.

Die Beziehung lautet:

$$I = I_x \cdot f_x,$$

bezogen auf den Wert $F = 1$

(I = bezogener Impulswert, I_x = gemessener Impulswert, f_x = Faktor, der dem tatsächlichen Schichtengewicht entspricht).

Die Schichtdicke wurde durch Subtraktion des Gesamtgewichtes des Präparateschälchens + Niederschlag mit dem Leergewicht des Schälchens zuzüglich entsprechend gestanztem Circollstreifen und Filterpapier, dividiert durch die Oberfläche des Niederschlags, gebildet. Auf diese Weise waren Präparate mit unterschiedlichen Gewichten direkt vergleichbar, unter der

Voraussetzung allerdings, daß bei den Gewichtsveränderungen die Aktivität erhalten geblieben ist.

Es erschien wünschenswert, jeweils immer die gleiche Aktivitätsmenge zu verabreichen. Um sich das ständige Umrechnen auf den augenblicklichen Aktivitätsstand zu ersparen, trug man die Zerfallskurve spiegelbildlich auf. Die Ordinate, die die Prozente des Aktivitätsabfalls anzeigt, wurde in ml der Lösung mit bekanntem Aktivitätsgehalt umgerechnet. Die Abszisse wurde als graphischer Ausdruck des Zeitablaufes beibehalten. So konnte man zwanglos die einmal festgelegte Curiezahl als Funktion der Zeit auf der spiegelbildlichen Zerfallskurve in ml der Lösung ablesen. Die Halbwärtszeit des Schwefel S_{35} beträgt 87,1 Tage.

Die für jede Probe einer Versuchsreihe gefundenen Impulswerte wurden auf graphisches Papier aufgetragen, dessen Abszisse, als Zeitachse, eine metrische Teilung hatte, und die Ordinate, auf der die Impulse eingetragen wurden, eine logarithmische. So ergaben sich, statt eines runden Kurvenverlaufes, zwei bzw. drei lineare Abschnitte, die den Steigungen der Kurve entsprachen. Um die verschiedenen Kurven vergleichen zu können, wurde von den einzelnen linearen Abschnitten der Tangens als Ausdruck der Kurvensteigung und somit der Speichersteigerung gebildet. Der Tangens läßt sich nach

$$K = \frac{\log I_2 - \log I_1}{t_2 - t_1} ;$$

(I_2 = Impulszahl des 2. Wertes, und I_1 = Impulszahl des 1. Wertes, t_2 und t_1 die dazugehörigen Zeiten) errechnen.

Fehlerquellen

Die Vielfalt von Arbeitsgängen, denen das Isotopenmaterial unterzogen wird, provoziert Fehlerquellen. Leider sind die Aktivitätsverluste durch Haftung an den verschiedenen Gefäßen (Spritzenzylinder, Zentrifugengläser, Kolben, Bechergläser, Fällungsapparat) schwer kontrollierbar, da wegen der geringen Strahlungsenergie des Schwefels S_{35} durch Fensterzählrohre keinerlei Verseuchung nachgewiesen werden kann. Andererseits könnten Vorgänge, die durch Glaswaren bei den ersten Versuchsreihen zu Aktivitätsverlusten geführt haben, bei den letzten Aktivitätsadditionen hervorrufen. Um diese Verfälschung möglichst zu vermeiden, wurde mit zwei Garnituren Glaswaren gearbeitet, sodaß die zuerst benützte Reihe durchschnittlich 5 Tage ständig gewässert werden konnte.

Eine große Fehlerquelle kann sich aus mangelnder Aufsicht bei der Veraschung entwickeln. Dampfte nämlich das Serum-Säuregemisch bis zum Trockensatz ein, so ist ohne weiteres denkbar, daß der ohnehin nur in Spuren vorhandene Schwefel als gasförmiges Schwefeldioxyd verloren geht.

Es ließ sich bei der Präparatfertigung manchmal nicht verhindern, daß beim Abheben des Zylinders von seiner Unterlage etwas Niederschlag an diesem hängenblieb. Diese, ebenso wie Pipettierfehler, waren für die einzelnen Proben bekannt und man konnte dann ihre Wertigkeit im Kurvenverlauf einkalkulieren.

Die während der Aufbereitung entstandenen Fehler können zwar kaum gänzlich vermieden, aber durch eine möglichst konstante Arbeitsweise innerhalb jeder Versuchsreihe nach außen unwirksam gemacht werden.

Bei der Impulszählung wurde immer danach getrachtet, die 10.000 - Impulsgrenze zu überschreiten, um die Fehlertoleranz nicht größer als 1 % der Impulswerte werden zu lassen.

Ein weitaus größerer Fehler erwuchs aus Netzschwankungen, die die Arbeitsspannung und damit die Zähleigenschaften der Zählkammer veränderten. Ferner ist die Kammerspannung von der Änderung des Gasdurchflusses abhängig, sodaß dessen größere Schwankungen andere Zählergebnisse zeigten. Zweifelhafte Werte konnten durch mehrmaliges Messen zu anderen Zeitpunkten, mit entsprechender Zerfallszeitkorrektur, bereinigt werden. Daß die Nullwerte des Apparates in die Auswertung jedes einzelnen Präparats einbezogen werden, ist selbstverständlich.

Es ist bereits gesagt worden, daß die Selbstabsorptionskurve und der Bereich der unendlichen Schichtdicke rein empirisch erstellt wurde. Bei der stöchiometrischen Überprüfung der zu erwartenden Gewichtswerte ergab sich, daß die tatsächlichen Werte bis zu 30 % über den rechnerisch ermittelten lagen. So ergibt sich stöchiometrisch aus 3,5 ml $n/10$ H_2SO_4 ein Bariumsulfatgewicht von 40,6 mg, aus dem Seruntotalschwefel lassen sich dazu etwa 50 Gamma Bariumsulfat erwarten. Die gewogenen Werte ergaben aber Gewichte um 55 mg. Die Begründung hierfür liegt in der Unmöglichkeit der vollständigen Anwendbarkeit der Maßnahmen zur quantitativen Schwefelbestimmung. Dabei soll nämlich der Niederschlag bei $800^{\circ}C$ geglüht werden, um das Einschlußwasser auszutreiben. Da dieses wegen unseres Weges der Präparatbereitung nicht möglich ist, ergibt sich ein Gewicht, das auch das Einschlußwasser umfaßt. Dieses scheint von der Kristallbeschaffenheit des Niederschlages und der Luftfeuchtigkeit beeinflußt zu werden. Bei unseren Gewichten ergaben sich Streuungen von ± 2 mg. Da aber in den Werten der Selbstabsorptionskurve derselbe Fehler enthalten ist, tritt dieser bei den Versuchsergebnissen wiederum kaum nach außen in Erscheinung.

Ergebnisse:

Es wurden sechs nicht tumorkranke Patienten und fünf Tumorkranke untersucht. Die erste Gruppe setzte sich aus Menschen zusammen, die zur Durchuntersuchung oder zur Durchführung einer physikalischen Therapie in der Klinik Aufnahme fanden. Die zweite Gruppe umfaßt Tumorkranke, deren Malignome von verschiedener histologischer Herkunft und in unterschiedlichen Stadien sind. Teilweise wurden diese früher bereits chirurgisch, zytostatisch oder durch Bestrahlung anbehandelt. Keiner der Patienten war oedematös.

Die erhaltenen Plasmaspiegelkurven wurden zur Auswertung halblogarithmisch aufgetragen. Die Steigerung der einzelnen Gefällestrecken wird mit K_1 und K_2 , und wo vorhanden mit K_3 bezeichnet. Der Mittelwert der Nichttumorkranken, M_G , wird als Bezugswert für die Einzelwerte der Tumorkranken und Gesunden betrachtet und in Prozent ausgedrückt.

A. Werte, die aus dem Plasma gewonnen wurden:

Tabelle 1

Gesunde:

Patient Nummer	K_1	% v. M_{G1}	K_2	% v. M_{G2}	K_3
I.	-0,02013	131,0%	-0,00218	121,0%	---
V.	-0,01685	101,0%	-0,00184	101,9%	---
VII.	-0,01489	97,0%	-0,00289	159,5%	-0,00068
VIII.	-0,01013	65,0%	-0,00115	63,7%	---
IX.	-0,02016	131,0%	-0,00165	93,0%	-0,00076
XI.	-0,01023	66,2%	-0,00115	63,7%	-0,00064

Mittel- werte	-0,01539	$\pm 0,00119$	-0,00181	$\pm 0,00014$	-0,00069
------------------	----------	---------------	----------	---------------	----------

=====

Tabelle 2

Tumorkranke:

Patient Nummer	K_1	% v. M_{G1}	K_2	% v. M_{G2}	K_3
II.	-0,02581	167%	-0,00108	59,8%	---
III.	-0,01809	118%	-0,00111	61,3%	---
IV.	-0,00903	59%	-0,00105	58,0%	---
VI.	-0,00950	62%	-0,00115	63,7%	---
X.	-0,02397	157%	-0,00053	29,4%	---
Mittel- werte	-0,01728	$\pm 0,00148$	-0,00098	$\pm 0,00007$	---
=====					

Das Verhältnis der Mittelwert M_T und M_G der vergleichbaren Steigungen K_1 und K_2 ergeben für K_1 einen als Durchschnitt um 14% rascheren Kurvenabfall bei den Tumorkranken gegenüber den Gesunden und für K_2 eine Verlangsamung des Abfalls von 54,44% bei den Tumorkranken gegenüber den Gesunden. Da die Tangenswerte für K_2 zugleich der Ausdruck für die Speicherung des markierten Cystins sind, bezeichnen die Prozentangaben auch das Ausmaß der Speicherung. Der Wert für K_2 wird weitgehend durch die Beschaffenheit des extrazellulären Raumes bestimmt.

Tabelle 3

Der Plasmaspiegel 180 Min. p.i. in % des 3 Min.-Wertes:

Pat.Nr.	I.	V.	VII.	IX.	M_{G3}	
%	22,75%	34,2%	28,1%	31,75%	29,2%	<u>Gesunde</u>
kg	54,5	64,5	65,3	60,1	61,1	
Pat.Nr.	II.	III.	IV.	X.	M_{T3}	
%	38,4%	35,8%	48,7%	38,8%	40,4%	
kg	58,1	62,0	78,0	56,5	63,65	<u>Kranke</u>

Das Verhältnis der Mittelwerte M_{T3} zu Mittelwert M_{G3} ergibt eine 38,5%ige Erhöhung bei den Plasmawerten der Kranken, der eine 3,8%ige bei den Patientengewichten entgegensteht.

B. Werte, die aus dem Urin gewonnen wurden:

Tabelle 4

Kontrollpersonen:

Pat.Nr.	80 Std.-Aus- scheidung.in.Curie	% d.Injekt. nach 80 Std.	% d. Injekt. nach 8 Std.
I.	75,1 μC	55,0%	4,1%
V.	46,5 μC	34,0%	5,3%
VII.	88,2 μC	64,5%	14,5%
VIII.	83,8 μC	61,0%	11,8%
IX.	79,9 μC	58,2%	14,6%
XI.+)	54,2 μC	72,5%	21,7%

=====

⁺) Dem Patienten XI wurde nur ca. 75 μC S_{35} -Cystin injiziert, woraus sich die mit den anderen Werten verglichene, hohe %-Zahl der 80 Stunden-Ausscheidung erklärt.

Die 8 Stunden-Ausscheidung wurde errechnet, weil man aus ihr vielleicht einen Einfluß auf den Plasmaspiegel ersehen könnte. Nachdem sich die Plasmaspiegelbestimmung nur auf 4 Stunden erstreckte, hat auch die Nierenausscheidung nur der ersten Stunden eine Bedeutung. Der Zeitraum, nach dem mit größerer Sicherheit Urin erwartet werden konnte, erstreckte sich über 8 Stunden nach Injektion.

Tabelle 5

Tumorkranke:

Pat.Nr.	80 Std.Aus- scheidg.in Curie	% d.Injekt. nach 80 Std.	% d. Injekt. nach 8 Std.
II.	57,2 μ C	42,0%	2,75%
III.	64,9 μ C	47,2%	3,80%
IV.	92,2 μ C	67,5%	8,75%

Von den Patienten VI und X konnte aus früher angeführten Gründen kein Urin erhalten werden.

C. Zusammenfassung der Werte, die einen Einfluß auf den signifikanten Verlauf der Abschnitte K₂ haben können:

Es erschien uns sinnvoll, bei der Beurteilung des Serumspiegels nicht nur die Ausscheidung, sondern auch die Leberfunktion, zu deren Bewertung die Serumlabilitätsproben allgemein herangezogen werden, zu verwenden.

Tabelle 6

Pat.Nr.	% v.M _{G2}	% d.8 Std.- Ausscheidg.	Leberfunktionsproben	
<u>Kontrollpersonen:</u>				
I.	121,0%	4,1%	Weltm.6	, Thymol +++, Cd(+)
V.	101,9%	5,3%	" 3	, " $\emptyset$, Cd $\emptyset$
VII.	159,5%	14,5%	" 6	, " ++ , Cd(+)
VIII.	63,7%	11,8%	" 7 1/2,	" ++ , Cd(+)
IX.	93,0%	14,6%	" 6	, " +,
XI.	63,7%	21,7%	" 7	, " ++, Cd +

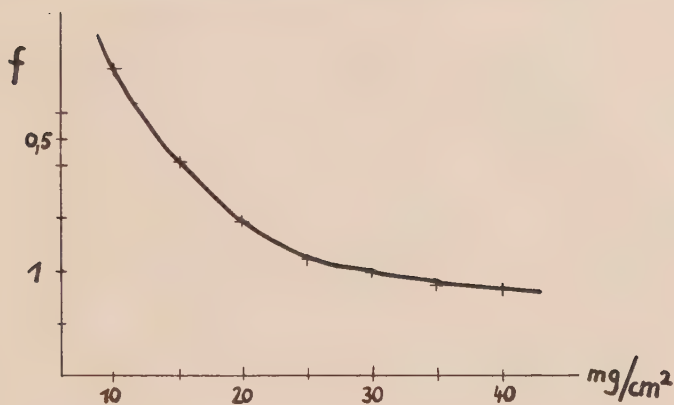
Tumorkranke:

II.	59,8%	2,75%	Weltm.3	, Thymol +, Cd +
III.	61,3%	3,80%	" 1	, " $\emptyset$, Cd(+)
IV.	58,0%	8,75%	" 3	, " +, Cd +
VI.	63,7%	-,--%	" 3	, " +, Cd +
X.	29,4%	-,--%	" 1	, " $\emptyset$, Cd $\emptyset$

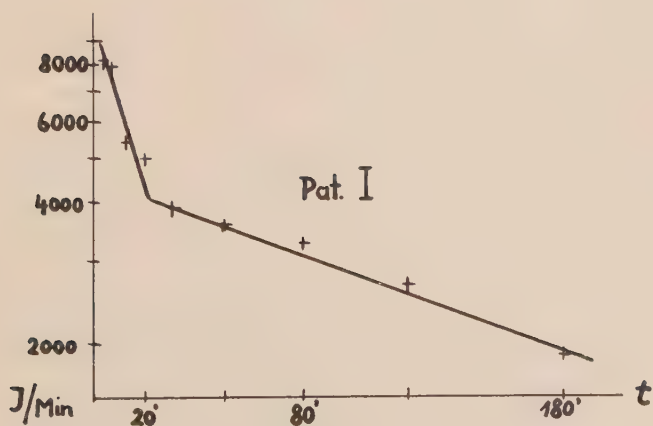
D. Daten und Diagnosen der Patienten z.Zt. des Versuchs:

- I. O.A., weibl., Bedienung, 37 Jahre, 54,5 kg, BKS 5/11, Coxarthrose li. und re., Spondylarthrosis deform.d.LWS;
- II. St.S., weibl., Hausfrau, 63 Jahre, 58,1 kg, BKS 70/112, Seit Dez. 1956 Melanosarkom d.re. Unterschenkels, kirsch- u. taubeneigroß, Metastasen;
- III. St.A., männl., Kaufmann, 65 Jahre, 62 kg, BKS 76/105, Temp. 38,4, kleinzelliges Bronchial-Ca, Metastasen im Pankreas, Lymphknoten, Knochen, Milz und Nieren;
- IV. G.W., männl., Hilfsarbeiter, 50 Jahre, 78 kg, BKS Lymphoretikuläres Sarkom d. Epipharynx u.d.li.Tons., Metastasen im hinteren Rachen-Nasenraum;
- V. M.H., männl., Spengler, 27 Jahre, 64,5 kg, BKS 16/47, Spondylitis ankylopoetica;
- VI. M.L., männl., Maurer, 79 Jahre, 60,7 kg, BKS 57/85, hühnereigroßes Lymphosarkom d. re. Oberarms;
- VII. K.M., weibl., Hausfrau, 55 Jahre, 65,3 kg, Spondylarthrosis deform., Spondylolisthesis;
- VIII. D.S., weibl., Hausfrau, 64 Jahre, 65 kg, BKS 20/40, part. Querschnittssyndrom n. Arachnoiditis;
- IX. S.L., weibl., Rentnerin, 64 Jahre, 60,1 kg, lab. Hochdruck, leichte Lungenstauung, Spondylosis;
- X. K.W., männl., Beamter, 61 Jahre, 56,5 kg, BKS 36/69, inoperables Bronchial-Ca, kleinapfelgroße Hilusdrüsenmetastasen bds., seit August 1958 diagnostiziert;
- XI. E.K., männl., Baumeister, 50 Jahre, 69 kg, BKS 7/18, Zustand nach Apoplexie vor 6 Monaten.

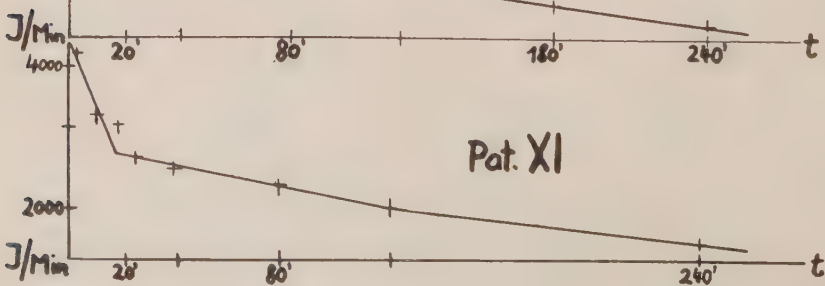
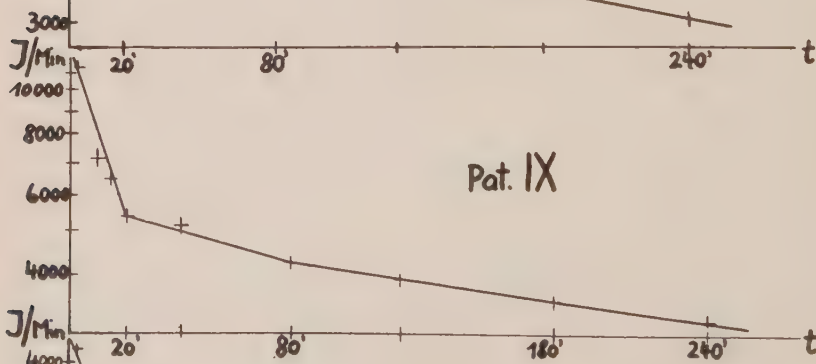
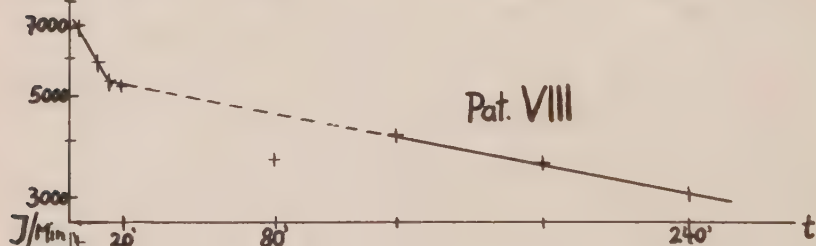
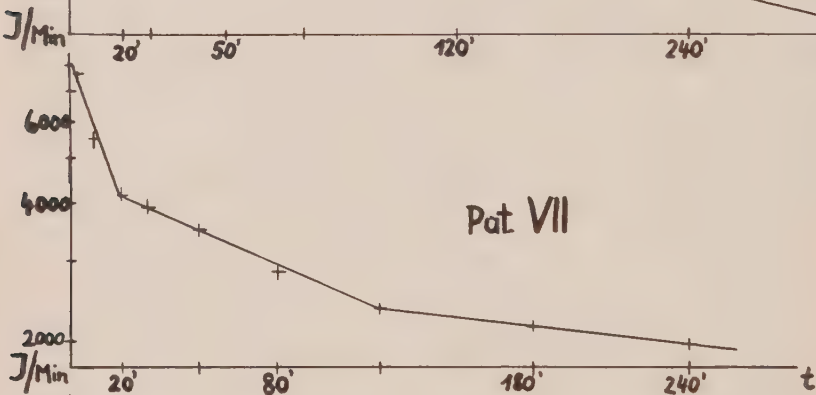
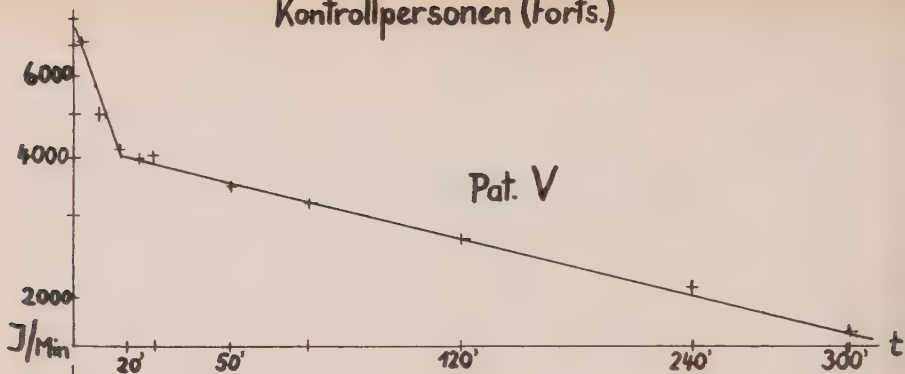
Selbstabsorptionsfaktor f für BaSO_4



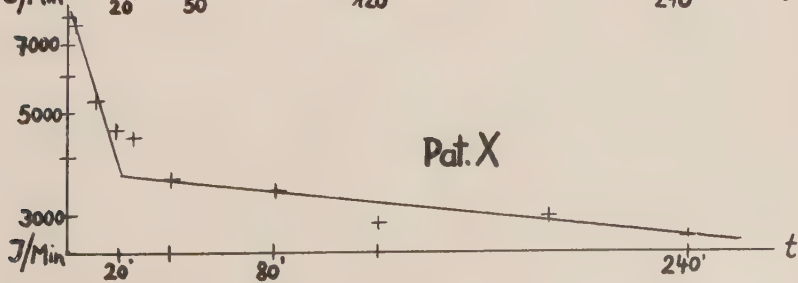
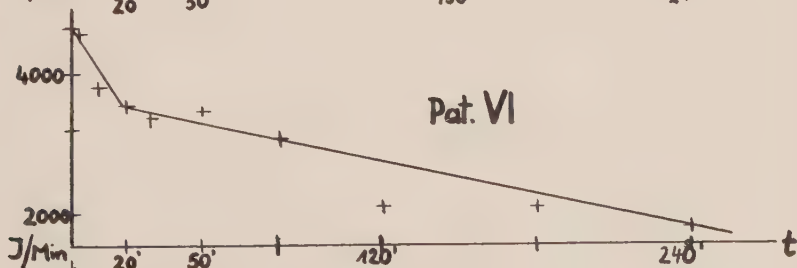
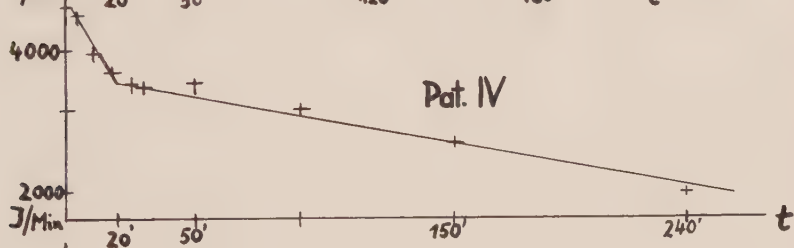
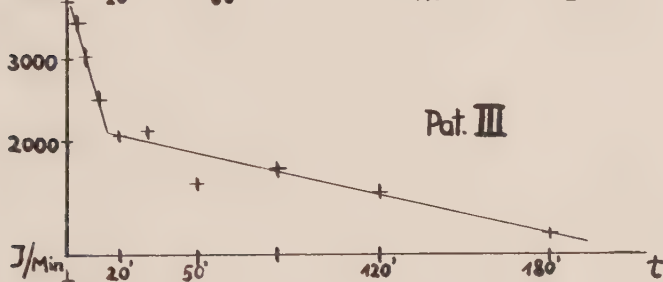
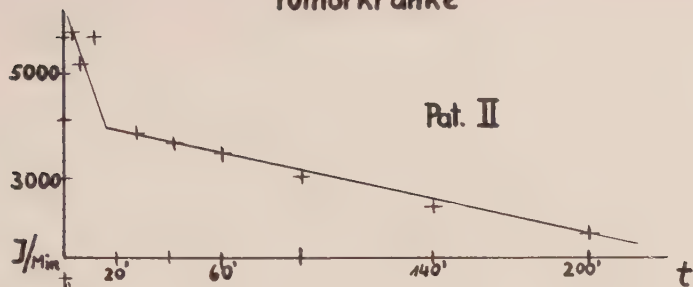
Kontrollpersonen



Kontrollpersonen (Forts.)



Tumorkranke



Diskussion

Die beschränkte Anzahl der Versuche macht es nicht angängig, Endgültiges über die Möglichkeit der Verwendung von Cystin als Diagnostikum zu sagen. Andererseits könnte der gesundheitlich unrepräsentative Durchschnitt der Gruppe der Kontrollpersonen besonders für die Tauglichkeit dieses Tumortests ins Feld geführt werden. Die Abweichung der Mittelwerte von K_1 und K_2 der Tumorkranken vom Bezugswert, den Mittelwerten von K_1 und K_2 der Kontrollreihe, ist bei K_1 mit einer Zunahme von 14 % bei Tumorträgern zwar nicht signifikant, aber immerhin nicht zu übersehen. Die Mittelwertsunterschreitung von M_T unter den Bezugswert M_G der Gefällestrecke K_2 um 54,44% erscheint dagegen hochsignifikant. Sie wird auch der von Cramer und Pabst (2) postulierten Differenz zwischen den malignen und gesunden Partien von 25-30% gerecht.

Die Kontrollgruppe wurde als gesundheitlich unrepräsentativ beschrieben, weil sie sich aus Patienten des rheumatischen Formenkreises (I, V, VII, VIII), einem Hochdruck (IX) und einen relativ jungen Apoplektiker (XI) zusammensetzt. Es wäre denkbar, daß gerade die Rheumatiker einen höheren Sulfaminosäurebedarf haben, als völlig Gesunde. Die Kollagenkrankheiten zeichnen sich dadurch aus, daß sich die Globuline vermehren, das Bindegewebe quillt, allenthalben Entzündungen ablaufen; im Blut findet sich eine Zunahme von Mucopolysacchariden (Heilmeyer (30)). Dieses sind alles Vorgänge, die die Eiweißsynthese beanspruchen.

Schreier et. koll. (12) konnten beweisen, daß markierte Schwefelaminosäuren in Mucopolysaccharide als Sulfat eingebaut werden. Daß Cystin und Cystinbildner, abgesehen von ihrer Wirkung bei Entgiftungen, auch eine große Bedeutung für die Eiweißsynthese haben, wurde von Hartmann (10) erläutert.

Das auffällige Unterschreiten des Durchschnittwertes in K_2 bei den Patienten VIII und XI, zusammen mit dem in gleicher Höhe liegenden Wert des Tumorkranken VI richtete das Augenmerk auf sie. Auch die Werte für K_1 liegen bei diesen drei Fällen ziemlich dicht zusammen. Somit liegt die Vermutung nahe, daß bei diesen Fällen weniger eine Stoffwechselgleichheit eine Rolle spielt (es handelte sich um ein partielles Querschnittsyndrom nach Arachnoiditis, einen Zustand nach Apoplexie und ein hühnereigroßes, solitäres Myosarkom bei einem 79-jährigen Mann), als vielmehr ein Faktor, der auf einem Gebiet lag, das allen drei Patienten gemeinsam war. Der Gewichtsvergleich gab keine Handhabe für das gleiche Verhalten der Plasmaspiegel, wohl aber konnten allen klinisch degenerative Gefäßprozesse zugesagt werden: Patient VIII ist eine 62-jährige kleine adipöse Frau mit einer Atheromatose der Gefäße. Patient XI ist 50 Jahre alt, der apoplektische Insult in der Anamnese weist auf Gefäßdegenerationen hin. Bei dem 79-jährigen Myosarkomkranken dürften ähnliche Vorgänge altersbedingt sein. Wenn nach Pabst (Hyperaemietest (31)) der Abtransport intramuskulär injizierter Stoffe vom Gefäßzustand abhängig ist, so dürfte umgekehrt auch der Austausch aus den Gefäßlumen bei Degenerationen in das Gewebe erschwert sein. Sollte sich die Anschauung erhärten lassen, so wäre bei einer Weiterverfolgung dieser Arbeit eine Abgrenzung der Personen, die klinischen Hinweis auf eine Gefäßdegeneration geben, durch den Hyperaemietest sinnvoll.

Die Kurven von Kontrollpersonen und von Kranken ergaben schon optisch einen auffälligen Unterschied. Dieser wird besonders deutlich, wenn die Ergebnisse auf Millimeterpapier aufgetragen werden. Die Kontrollkurven zeigen von der 20-Minuten-Grenze an einen wesentlich stärkeren Abfall als die Kranken. Um diese Erscheinung in Zahlen fassen zu können, wurde in Tabelle 3 der 3-Minuten-Wert mit dem 180-Minuten-Wert in Beziehung gesetzt.

Das Verhältnis der jeweiligen Mittelwerte zueinander ergibt eine Erhöhung des Verhältnisses der Kranken um 38,5% gegenüber den Kontrollen; somit sind die Kontrollkurven um diesen Prozentsatz höher. Ein Vergleich mit den Gewichten in den Gruppen ergibt ein um 3,8% höheres Durchschnittsgewicht bei den Kranken, womit sich die Mutmaßung erhärten läßt, daß das Plasmaspiegelverhalten bei den Tumorkranken nicht wesentlich auf eine Verteilung in einem, gegenüber den Kontrollen, geringeren Flüssigkeitsraum zurückgeht. Ein besonders günstiges Beispiel hierfür liefert der Fall IV, bei dem einem Verhältnis von 48,7% des 3-Minuten-Wertes zum 180-Minuten-Wert ein Gewicht von 78 kg gegenübersteht. Daß das Körpergewicht dem extrazellulären Flüssigkeitsraum direkt bezogen werden kann, wurde bereits erläutert (16, 17, 18). Es wäre andererseits falsch, aus der Durchschnittsdifferenz von 38,5% auf eine ebensolche Steigerung der Speicherung zu schließen, da obige Verhältnissetzung sich über zwei Kurvenabschnitte gänzlich verschiedener Bedeutung erstreckt. Interessant ist, daß der Unterschied nicht in dem Niveau liegt, das durch die Abschnitte K_2 oder K_3 gekennzeichnet ist, - diese bewegen sich vom Körpergewicht abhängig, etwa in gleicher Höhe, - sondern im 3-Minuten-Wert.

Drei Kurven der Kontrollgruppe zeigen einen dreiteiligen Verlauf (VII, IX, XI), einen Anhaltspunkt für die Deutung gibt die Beobachtung von Weissberger und Suhrland (4), wobei S_{35} -Cystin nach Injektion von 6-700 Gamma intraperitoneal bei Ratten sehr rasch, und zwar in den ersten 45 Minuten, in Leber, Milz und Niere nachgewiesen wurde. Von da ab erfolgt ein Abfall der Aufnahme des Cystins in diese Organe. Der Gehalt an Isotopen übersteigt den der Tumoren (Murphy-Lymphosarkom) um 100%. Der Spiegel in Muskel und Serum liegt unter der 10%-Grenze von Leber, Niere und Milz. Diese Veröffentlichung deckt sich auch mit der von Passalacqua und Koch (32), die bereits 15 Minuten nach Injektion von 50 C S_{35} -Cystin in Mäuse, eine mikroautographisch nachgewiesene

Aktivitätsansammlung in Leber, Niere und Milz fanden. Andere Organe, wie Thymus und Pankreas, blieben frei. Bei den speichernden Organen sammelte sich die Aktivität in den Zellkernen des Leberparenchyms und in der Niere in den Henle'schen Schleifen und Sammelröhrchen. Letzteres wurde als ein Ausscheidungsvorgang gewertet.

Der in diesen Fällen mit K_2 gekennzeichnete Kurvenabschnitt, wird somit von der raschen Fixierung der Aminosäure an die Leberzellen und ihrer Ausscheidung in den Nieren bestimmt. Aus obigen Arbeiten geht nicht hervor, warum es auch zu einer Konzentration in der Milz kommt. Die Ansammlung in der Leber findet ihre Erklärung in dem hier gesteigert ablaufenden Zellstoffwechsel, der Entgiftung, der Eiweißsynthese (7, 8, 10). Warum sich dieses Verhalten nicht bei allen Kurven findet, ist augenblicklich nicht zu erklären. Möglich wäre immerhin, daß bei den übrigen Kurven der Übergang der raschen Fixierung in Leber, Niere und Milz, in den Austausch mit dem übrigen Organismus allmählicher vor sich geht. Jedenfalls erklären die Möglichkeiten der Fixierung des Cystins und seiner Ab- oder Umbauformen in der Leber und die Ausscheidung durch die Nieren den raschen Abfall gegenüber den Tumorträgern recht gut. Warum es bei letzteren nicht auch zu einer vorzüglichen Ansammlung in den genannten Organen kommt, kann nur zum Teil mit einer möglichen Vergiftung durch Tumorstoffwechselprodukte erklärt werden. Die Serumlabilitätsproben könnten einen Anhalt dafür geben (s.Tab.6).

Welchen Weg das Cystin und seine Produkte gehen, zu überprüfen, reicht über den Rahmen dieser Arbeit hinaus. Der Umbau in Taurocholinsäure, Methionin und Glutathion ist nachgewiesen (10, 19, Lowe und Roberts (33)). Kirnberger (34) konnte prinzipiell nach oraler Gabe von Cystin und Cystein einen Anstieg der Sulfhydrylgruppen im Lebergewebe nachweisen, ohne aber angeben zu können, in welchen Bindungen diese erscheinen.

Ley und Mehnert (35) konnten nach Cystinbelastung bei Krebskranken und Gesunden zeigen, daß erstere weniger Schwefel ausscheiden. In unseren Untersuchungen konnte deren Beobachtung bestätigt werden, daß die großen individuellen Schwankungen der Ausscheidung, sowohl bei Gesunden als auch bei Tumorträgern, eine Mittelwertsbildung illusorisch macht. Nach Kellner, Ley und Stark (3) soll aber bei den Gesunden die Gesamtheit des Belastungsschwefels, der in Form von Cystin zugeführt wurde, gegenüber weniger als der Hälfte bei den Malignomkranken im Urin ausgeschieden werden. Eine Bestätigung letzterer Erscheinung kann nicht erfolgen, da nicht, wie bei diesen, vor Cystinbelastung eine Schwefelbestimmung im Harn vorgenommen wurde. Unsere Daten der 80-Stunden-Ausscheidung aber machen es unwahrscheinlich, daß die Ausscheidungsbilanz solch große Unterschiede zeigt (s.Tab.4 und 5). Allerdings könnte möglich sein, daß unsere Zahlen in Bezug auf obige Angaben in ihrer Vergleichbarkeit verwischt sind, weil ein Gemisch von D- und L-Cystin verwendet wurde und meist nur die Linksstereomeren die biologisch wirksamen Formen sind, somit das D-Cystin völlig eliminiert wird. Weißberger u.a. (36) erprobten Derivate und Stereoisomere des Cystins in ihrer biologischen Wirksamkeit durch Aufnahme in Leukozyten, und stellten dabei fest, daß das L-Cystin nicht durch ähnlich gebaute Stoffe ersetzt werden kann.

Betrachtet man die einzelnen Unterschreitungen des Bezugswertes M_G im Kurvenverlauf K_1 , so läßt sich bei den Versuchen II, X, III eine beträchtliche Vergrößerung des extrazellulären Raumes annehmen, die sich aus den Gewichten nicht mehr erklären läßt. Möglicherweise wird dieses durch eine gesteigerte Gefäßdurchlässigkeit, die toxische oder entzündliche Ursache haben kann, hervorgerufen.

Bei den genannten Patienten handelt es sich um Erkrankung an einem früher operierten und bestrahlten, metastasierenden Melanosarkom (II), um ein bestrahltes, inoperables, in die Hilusdrüsen ausgebreitetes kleinapfelgroßes Bronchialkarzinom (X) und um ein Bronchialkarzinom, das bereits in Lymphknoten, Milz, Nieren und besonders in das Pankreas, ferner in die Knochen metastasierte (III). Die histologische Untersuchung ergab ein kleinzelliges Carcinoma solidum.

Die Aufspaltung des Mittelwertes der Steigung K_2 in seine Einzelwerte ergibt die größten Abweichungen zu M_G bei den Patienten X, IV, II, III. Für den Verlauf dieses Kurvenbereichs ist, wie bereits beschrieben, sowohl die Beteiligung am Stoffwechsel, als auch die Ausscheidung verantwortlich. Daß die Aktivität im Plasma gegenüber den Gesunden nicht absinkt, muß somit, nachdem klinisch eine Sekretionsstörung der Niere ausgeschlossen wurde und auch die Ausscheidungszahlen (Tab.5) keinen Hinweis geben, in einem andersartigen Ablauf des Stoffwechsels gesucht werden. Es liegt nahe, den Tumorstoffwechsel direkt und in seinen Auswirkungen durch Abbauprodukte auf das zentrale Stoffwechselorgan dafür verantwortlich zu machen. Wie bereits in der Besprechung der Verhältnisse des 180-Minuten-Wertes zu den 3-Minuten-Werten hingewiesen wurde, bewegen sich die Kurven beider Gruppen weitgehend auf demselben absoluten Impulsniveau. Dieses wird durchschnittlich zwischen 180 und 240 Minuten erreicht. Der diesbezügliche Unterschied zwischen Gesunden und Kranken besteht lediglich in der Zeitspanne, nach der dieses Niveau erreicht wird. Die Kontrollkurven zeichnen sich dadurch aus, daß in ihnen das Niveau früher erlangt wird.

Obwohl die beschriebenen Untersuchungen an eine Klinik mit der entsprechenden Ausrüstung gebunden sind und die Darstellung des markierten Cystins sehr kostspielig ist, erscheint die Weiterführung der Versuche auf breiter Basis, auf Grund der signifikanten Unterschiede beim Stoffwechselverhalten der Malignomkranken gegenüber Gesunden, absolut gerechtfertigt.

Zusammenfassung

Es wird die Ausnützung des Cystinstoffwechsels zum Nachweis einer malignen Erkrankung beschrieben. Die Versuche wurden mit S_{35} -markiertem Cystin unternommen. Die entscheidenden Proben entnahm man dem Serum. Ihre Aufbereitung wurde modifiziert und damit zeitsparender gestaltet. Trotz der geringen Anzahl von Versuchspersonen ergibt sich ein eklatanter Unterschied im Verhalten der Cystinspiegel im Plasma zwischen Gesunden und Malignomkranken.

Literaturhinweise:

1. Cramer H., Brilmayer G., Pabst H.W.
Tumordiagnostik d. selekt. Speicherg. v. Radiophosphor,
Natriumfluoreszin u. Atebrin.
Schweiz. med. Wschr., 1952, 4, p.576
2. Cramer H., Pabst H.W.
Tumordiagn. m. rad. Isotopen. Anwendungsmöglichkt.u.
Grenzen.
Zeitschr. f. Krebsforschg., 1952, 58, p. 163
3. Kellner K., Ley H., Stark Th.
Untersuchg. d. Cystinstoffwechsel b. Ges. u. Malign.Kr.
Klin. Wschr. 15. März 1957, 35, (6), p. 276
4. Weissberger A.S., Suhrland L.G.
2. Wirkung v. Selen-Cystin auf Morphy-Lymphosarkomzellen
b. Ratten
Blood, Journ. Hemat., Baltimore, Jan.1956,11,(1), p.15
5. Weissberger A.S., Levine B.
Incorp. of S₃₅-L-Cystin by Normal and Leukemic Leukocyts
in vivo.
Blood, Nov. 1954, 9, (11), p. 34
6. Bieber H.
Dissertation München 1959
7. Hammett F.S.
Arch. path. 1929, 8, p. 575
8. Hartweg H.
Wirkg. v. Cystein auf den Ablf. d. Strahlreakt. an KM
nach Lokalbestrahlung
Strahlentherapie 1957, (102) 4, p. 65
9. Hamperl H.
Lehrb. d. Pathol. Springer, Hd1bg. 1954
10. Hartmann Fr.
Dtsch.Arch. klin. Med. 1949, 196, p. 412
11. Emmrich R.
Beeinflussg. d.Cystingehalts d. Serumalb. u. -globuline
durch Methionin
Klin. Wschr. 1951, 4/6, p. 82

12. Wiggans D.S., Burr W.W., Rumsfeld H.W.
Metabolism. of Serum Proteins.I.
Arch. Biochem. - Biophys. Nov. 1957, 72, (1)
13. Schreier K., Zöller E., Harmann G.
Stud. üb. d. Einbau v. S_{35} -Meth. i.d. Knorpel u.a. Org.
b. Ratten
Ärztl. Forschung 1957, 11, (11) p. 552
14. Lang K.
Stoffwechsel u. Ernährung, Springer, Hdlbg., 1950
15. du Vignaud
Cornell Univ. Press, Ithaca NY. 1952 zit. nach (34)
16. Huisgen R.
Vorlesg. d. organ. Chemie 1954
17. Walser M., Seldin D.W., Grollmann A.
Evaluation of radiosulfate for the determ. of volume of
extrazell. fluid in man and dogs.
Journ. Clin. Invest. 153, 32
18. Swan R.C., Madisso H., Pitts R.F.
Measurement of extracell. fluid volume in nephrectomized
dogs.
Journ. Clin., Invest., 1954, 33, p. 1447
19. Walser M.
Volume of distr. of ra-sulfate as a measure of extr.
fluid.
Proc. Soc. Exper. Biol.+Med. 1952, 79, p. 372
20. Everett N.B., Simmons B.S.
Distribution and excretion of S_{35} sodium sulfate in the
albino rat
Arch. Biochem. + Biophys. 1952, 35, p. 152
21. Ryan R.I., Pascal L.P., Inoye L., Bernstein L.
Exper. with ra-sulfate in estim. of physiol. extra-zell.
water in healthy and abnormal man
Journ. Clin. Invest. Okt. 1956, 25, (10) p. 1119
22. Smith P., Quimby F.
Surg. Gynec. Obstet. 1944, 79, p. 142
zit. nach (26)

23. Madison L.L., Teng H.C., Seldin D.W., Reid A.F., Mac Donald R.
Radiosulfate as a measure of extrazell. volume in edemat. states.
Clin. Research Proc. 1955, 3, p. 126
24. v. Hevesy
Strahlentherapie 1957 (102) 4 p. 341
25. Masters M.
The determin. of sulfur in biol. material
Biochem. Journ. 1959, 33, p. 1313
26. Geigy, Wissenschaftl. Tabellen 1955
27. Agren E.
Stud. on radioactive Sulfur S_{35} precipit. as Benzidin Sulf.
Acta radiol. 1957, 48, Fasc. 5
28. Friesseke und Hoepfner, Apparatebeschreibg.
29. Agren E.
30. Heilmeyer L.
Lehrb. d. Inn. Med. Springer, Hdlbg. 1956
31. Pabst H.W.
Hyperaemietest
Strahlentherapie 1957, (102) 4, p. 600
32. Passalacqua F., Koch R.
Mikroautograph. Untersuchg. üb. d. Verh. S_{35} Cystin
Strahlentherapie 1958 (105) 2
33. Lowe I.P., Roberts E.
Journ. Biol. Chem. 1955, 212 zit. n. (21)
34. Kirnberger E.J.
Einfluß oraler Gaben v. L-Cystin und L-Cystein auf Sulfhydrylspiegel im Lebergew.
Arzneimittelforschung 1956, 6, (8), p. 467
35. Ley H., Mehnert H.
Z. Klin. Med. 1953, 152 p. 129

36. Weissberger A.S., Suhrland L.G., Seifter J.
1. Strukturelle Untersuchg. üb. d. Verhinderd. d.
Aufn. v. L-Cystin d. leukem. Leukocyten in vitro.
Blood, Jan. 1956, 11, (1) p. 1.

Lebenslauf

Am 21. Dezember 1933 wurde ich, Rudolf Thomas Wendelin Perl, als erstes von drei Kindern dem damaligen Reichswehroffizier Wendelin Perl und seiner Ehefrau Emma, geb. Dir, in Landsberg/Lech geboren. Berufliche Versetzungen brachten meine Familie nach München und St. Wendel/Saar. Dort besuchte ich von 1939 bis 1943 die Volksschule und dann wegen Frontnähe nur kurz das Humanistische Gymnasium. Im Dezember 1944 wurden wir ausgebombt und kamen über Ulm nach Landsberg. Da hier die Volksschule früher eröffnet wurde, besuchte ich die 5. Volksschulklasse. Erst Sommer 1945 trat ich dann in die Landsberger Oberrealschule ein, wo ich im Juli 1953 mit bestem Erfolg absolvierte.

Seit meiner Schülerzeit war ich in der Kath. Jugend aktiv tätig und kam so mit den menschlichen Anliegen in enge Berührung. Teils deswegen, teils wegen meiner naturwissenschaftlichen Neigungen, beschloß ich, mich dem Studium der Medizin zuzuwenden. Ich immatrikulierte im November 1953 an der Ludwig-Maximilians-Universität München. Hier bestand ich das Physikum sehr gut und ging nach 2 klinischen Semestern in München nach Wien. Hier kam ich in ein besonderes Verhältnis zur Kinderheilkunde, der ich mich in Zukunft gern widmen möchte. Danach kehrte ich wieder nach München zurück, wo ich meine kinder- und internmedizinischen Kenntnisse vertiefte. Im Frühjahr 1958 durfte ich unter Leitung von Priv.Doiz.H.W. Pabst im Isotopenlabor des Rieder-Instituts experimentell-wissenschaftlich arbeiten. Nachdem die Experimente im Frühjahr 1959 beendet waren, trat ich am 2.3.d.J. in das medizinische Staatsexamen ein, das ich am 8.6. mit gutem Ergebnis beendete.

Das nun anschließende Medizinalpraktikum möchte ich in den Dienst der fachlichen Vertiefung stellen.

Landsberg, den 1. Juli 1959

Rudolf Perl

